

CHAPITRE 2.3.5.

EXIGENCES MINIMALES POUR LA PRODUCTION DES VACCINS EN CONDITIONS D'ASEPSIE

RÉSUMÉ

Ce chapitre décrit les exigences pour une production aseptique lors de la fabrication et du contrôle de la qualité des vaccins vétérinaires, en accord avec le Chapitre 1.1.8. Principes de production des vaccins vétérinaires. Les fabricants utiliseront ces recommandations comme base pour l'élaboration de règles spécifiques adaptées à leurs besoins individuels.

La fabrication des vaccins doit s'effectuer dans des zones d'atmosphère contrôlée; l'entrée dans ces zones doit se faire par des sas réservés au personnel, au matériel et aux substances. Les zones d'atmosphère contrôlée doivent être maintenues à un niveau de propreté approprié et alimentées en air filtré sur des filtres d'une efficacité adéquate. Les différentes opérations de préparation des accessoires, de préparation du produit et de répartition doivent être effectuées dans des locaux séparés au sein de la zone d'atmosphère contrôlée. Certaines, voire toutes les opérations de fabrication doivent être réalisées en conditions d'asepsie.

Les zones d'atmosphère contrôlée destinées à la fabrication des vaccins sont classées en quatre niveaux selon les caractéristiques requises pour leur environnement. Chaque opération de fabrication requiert un niveau approprié de propreté de l'environnement « en activité » afin de minimiser les risques de contamination particulaire ou microbienne des produits ou des substances manipulés. Afin de satisfaire aux conditions requises « en activité », ces zones doivent être conçues de manière à atteindre des niveaux définis de propreté de l'air « au repos ». L'état « au repos » est l'état où les locaux sont opérationnels avec le matériel de production en place, sans que les opérateurs soient à leur poste. L'état « en activité » est l'état où les locaux et les équipements fonctionnent selon le mode opératoire défini et en présence du nombre prévu d'opérateurs. Les états « au repos » et « en activité » sont définis pour chaque zone d'atmosphère contrôlée.

Ce chapitre décrit les exigences spécifiques pour la qualité de l'air, l'utilisation d'isolateurs, la préparation aseptique, le personnel, la conception des bâtiments, l'équipement, la désinfection, la transformation des matériaux, la stérilisation et la finition des produits.

EXIGENCES SPÉCIFIQUES POUR LA PRÉPARATION ASEPTIQUE

1. Principes

La plupart des vaccins sont des produits injectables, stériles ou préparés de manière aseptique. Leur production doit répondre aux exigences spécifiques de préparation aseptique.

La garantie de la stérilité et des autres aspects qualitatifs ne repose pas uniquement sur les tests réalisés sur le produit fini.

2. Généralités

- i) La fabrication des vaccins doit s'effectuer dans des zones d'atmosphère contrôlée ; l'entrée dans ces zones doit se faire par des sas réservés au personnel, au matériel et aux substances. Les zones d'atmosphère contrôlée doivent être maintenues à un niveau de propreté approprié et alimentées en air filtré sur des filtres d'une efficacité adéquate.

- ii) Les différentes opérations de préparation des accessoires, de préparation du produit et de répartition doivent être effectuées dans des locaux séparés au sein de la zone d'atmosphère contrôlée. Certaines, voire toutes les opérations de fabrication doivent être réalisées en conditions d'asepsie.
- iii) Les zones d'atmosphère contrôlée destinées à la fabrication des vaccins sont classées selon les qualités requises pour leur environnement. Chaque opération de fabrication requiert un niveau approprié de propreté de l'environnement « en activité » de façon à réduire au minimum le risque de contamination particulaire ou microbienne des produits ou des substances manipulés.
- iv) Afin de satisfaire aux conditions requises « en activité », ces zones doivent être conçues de manière à atteindre des niveaux définis de propreté de l'air « au repos ». L'état « au repos » est l'état où les locaux sont opérationnels avec le matériel de production en place, sans que les opérateurs soient à leur poste. L'état « en activité » est l'état où les locaux et les équipements fonctionnent selon le mode opératoire défini et en présence du nombre prévu d'opérateurs.
- v) Les états « en activité » et « au repos » sont définis pour chaque zone d'atmosphère contrôlée.
- vi) Pour la préparation aseptique, on distingue quatre classes de zones à atmosphère contrôlée.
 - a) **Classe A** : Pour les points où sont réalisées des opérations à haut risque tels que le point de répartition, les bols de bouchons, les ampoules et flacons ouverts, les points de raccordements aseptiques. Les postes de travail sous flux d'air laminaire garantissent normalement les conditions requises pour ce type d'opérations. Les systèmes de flux d'air laminaire doivent délivrer de l'air circulant à une vitesse homogène de 0.36–0.54 m/s (valeur indicative) dans les systèmes non clos. Le maintien de la laminarité du flux doit être démontré et validé.

Un flux d'air unidirectionnel et des vitesses inférieures peuvent être utilisés dans les isolateurs clos ou dans les systèmes clos type « boîtes à gants ».
 - b) **Classe B** : pour les opérations de préparation et de remplissage aseptiques. Cette classe constitue l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A.
 - c) **Classes C et D** : zones à atmosphère contrôlée destinées aux étapes moins critiques de la préparation aseptique.

3. Classification des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée

- i) Les zones et les dispositifs d'atmosphère contrôlée doivent être classés conformément à la norme EN/ISO 14644-1. Leur classification doit être clairement distincte de la surveillance de l'environnement « en activité ». La concentration maximale autorisée pour les particules en suspension dans l'air pour chaque classe est donnée dans le tableau ci-dessous.

Nombre maximal autorisé de particules par m ³ , de taille égale ou supérieure aux tailles précisées				
Classe	Au repos		En activité	
	0.5 µm	5.0µm	0.5 µm	5.0µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352,000	2900
C	352,000	2900	3,520,000	29,000
D	3,520,000	29,000	Non défini	Non défini

- ii) Lors des essais de classification des zones d'atmosphère contrôlée de classe A, un volume minimal d'échantillon de 1 m³ est prélevé à chaque point d'échantillonnage. Pour les zones de classe A, la classification particulaire correspond à une classification ISO 4.8 (telle que définie dans ISO 14644-1), basée sur la limite fixée pour les particules ≥5.0 µm. Pour les zones de classe B (« au repos »), la classification particulaire correspond à une classification ISO 5 pour les deux tailles de particules considérées. Pour les zones de classe C (« au repos » et « en activité »), la classification particulaire correspond respectivement à

une classe ISO 7 et 8. Pour les zones de classe D (« au repos »), la classification correspond à une classe ISO 8. Pour les essais de classification, la méthodologie EN/ISO 14644-1 définit le nombre minimal de points d'échantillonnage et le volume des échantillons en se basant sur la concentration maximale admissible pour la plus grande taille de particules considérée ainsi que la méthode d'interprétation des résultats obtenus.

- iii) Compte-tenu du taux élevé de particules $\geq 5.0 \mu\text{m}$ susceptibles de sédimenter dans les tubes de prélèvements longs, des compteurs de particules portables équipés de tubes courts seront utilisés pour la classification des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée. Des sondes isocinétiques seront utilisées sous les flux d'air unidirectionnels.
- iv) La classification « en activité » peut être démontrée pendant les opérations de routine, pendant des opérations simulées ou pendant les tests de répartition aseptique du milieu de culture puisqu'une simulation des situations les plus défavorables est en l'occurrence demandée. La norme ISO 14644-2 fournit des informations sur les essais à réaliser pour démontrer le maintien de la conformité aux classes de propreté définies.
- v) Les zones et les dispositifs d'atmosphère contrôlée sont surveillés «en activité» de façon systématique, pendant toute la durée des étapes critiques, sauf dans les cas justifiés où des contaminants générés par le procédé sont susceptibles de détériorer le compteur de particules ou de présenter un risque, dû par exemple à des organismes vivants. Dans ces cas, la surveillance des opérations de montage des équipements ne peut être entreprise que préalablement à l'exposition au danger. Une surveillance doit également être réalisée pendant des simulations de procédés de fabrication.
- vi) Les systèmes de surveillance des particules en suspension peuvent être des compteurs de particules indépendants ou un réseau de points d'échantillonnage en accès séquentiel raccordé à un compteur unique ou une combinaison des deux.
- vii) Les volumes d'échantillons prélevés par des systèmes automatisés pour la surveillance des zones sont fonction de leur vitesse d'échantillonnage. Il n'est pas nécessaire que le volume d'échantillonnage soit le même que celui utilisé pour la classification des zones ou des dispositifs d'atmosphère contrôlée.
- viii) Les limites particulières indiquées dans le tableau « au repos » sont atteintes après un bref temps d'épuration de 15 à 20 minutes (valeur indicative) en l'absence du personnel et après la fin des opérations de production.
- ix) La surveillance des classes C et D en activité doit être réalisée conformément aux principes de gestion des risques qualité. Les exigences et les seuils d'alerte et d'action sont fonction de la nature des opérations réalisées, mais les temps d'épuration recommandés doivent être respectés.
- x) D'autres paramètres comme la température et l'humidité relative dépendent du produit et de la nature des opérations réalisées. Ces paramètres ne doivent pas interférer avec les standards définis de propreté.
- xi) Le tableau ci-dessous fournit quelques exemples d'opérations qui sont réalisées dans les différentes classes :

Classe	Exemples d'opérations sur des préparations aseptiques
A	Préparation et répartition aseptiques
C	Préparation de solutions destinées à être filtrées
D	Manipulation d'accessoires après lavage

- xii) Les opérations aseptiques doivent être surveillées à une fréquence élevée par des méthodes utilisant des boîtes de Pétri, des échantillons volumétriques d'air et des prélèvements de surfaces (écouvillons et géloses de contact, par exemple). Les méthodes d'échantillonnage utilisées en activité ne doivent pas interférer avec la protection des zones. Les résultats de la surveillance doivent être pris en compte lors de la revue des dossiers de lots en vue de la libération des produits finis. Les surfaces et le personnel doivent être contrôlés après chaque opération critique. Une surveillance microbiologique supplémentaire est également requise en dehors des phases de production, par exemple après des opérations de validation, de nettoyage ou de désinfection.

Limites recommandées pour la surveillance microbiologique des zones à atmosphère contrôlée durant la production :

Limites recommandées de contamination microbiologique ^(a)				
Classe	Echantillon d'air ufc/m ³	Boîtes de Pétri (diam. 90 mm) ufc/4 heures ^(b)	Géloses de contact (diam. 55 mm) ufc/plaque	Empreinte de gant cinq doigts ufc/gant
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	–
D	200	100	50	–

^(a)Il s'agit de valeurs moyennes. ^(b)Certaines boîtes de Pétri peuvent être exposées pendant moins de quatre heures.

- xiii) Des seuils d'alerte et d'action appropriés doivent être définis pour les résultats de la surveillance particulière et microbiologique. En cas de dépassement de ces limites, des procédures opérationnelles doivent imposer des mesures correctives.

4. Isotechnie

- i) Le recours à l'isotechnie en vue de diminuer les interventions humaines dans les zones de fabrication peut réduire sensiblement le risque de contamination microbiologique au contact de l'environnement des produits fabriqués de façon aseptique. Les isolateurs et les dispositifs de transfert peuvent être de conceptions très variées. L'isolateur et son environnement immédiat doivent être conçus pour obtenir la qualité d'air requise dans chacune des zones. Les isolateurs sont construits à partir de matériaux divers plus ou moins sujets à la perforation et aux fuites. Les dispositifs de transfert peuvent être équipés d'une porte simple, de doubles portes ou de systèmes entièrement hermétiques intégrant des techniques de stérilisation.
- ii) Les opérations de transfert vers l'intérieur et vers l'extérieur de l'isolateur constituent l'une des principales sources potentielles de contamination. D'une manière générale, les manipulations à haut risque doivent se dérouler à l'intérieur de l'isolateur, bien qu'il soit admis que les postes de travail de ces dispositifs ne soient pas toujours équipés de flux d'air laminaire.
- iii) La qualité de l'air requise dans l'environnement immédiat dépend de la conception et de l'utilisation de l'isolateur. Celle-ci doit être contrôlée et correspondre au moins à la classe D en cas de fabrication aseptique.
- iv) Les isolateurs ne seront installés qu'après une validation appropriée. Cette validation tiendra compte de tous les facteurs critiques que comporte cette technologie, notamment de la qualité de l'air à l'intérieur et à l'extérieur (environnement immédiat) de l'isolateur, de la désinfection du système, du procédé de transfert et de l'intégrité de l'isolateur.
- v) Une surveillance systématique doit être effectuée et comprendre des essais fréquents de fuite sur l'isolateur et sur le système manchettes/gants.

5. Préparation aseptique

- i) Après nettoyage, les accessoires doivent être manipulés dans un local de classe D au moins. La manipulation des matières premières et accessoires stériles qui ne seront pas soumis ultérieurement à stérilisation ou à filtration stérilisante doit être réalisée à un poste de travail de classe A dans un environnement de classe B.
- ii) La préparation de solutions qui subissent ultérieurement une filtration stérilisante peut être effectuée dans un local de classe C ; sinon, la préparation du matériel et des produits doit se faire à un poste de travail de classe A, dans un environnement de classe B.
- iii) La manipulation et la répartition des produits fabriqués aseptiquement doivent être effectuées à un poste de travail de classe A dans un environnement de classe B.

- iv) Le transfert, avant bouchage, de récipients partiellement clos, tels que ceux qui sont utilisés pour la lyophilisation, doit s'effectuer soit à un poste de travail de classe A dans un environnement de classe B, soit dans des chariots de transfert scellés dans un environnement de classe B.

6. Exigences spécifiques pour le personnel affecté aux zones d'atmosphère contrôlée

- i) Le nombre de personnes présentes dans les zones d'atmosphère contrôlée sera réduit au minimum; ceci est particulièrement important lors des fabrications aseptiques.
- ii) Toutes les personnes (y compris le personnel de nettoyage et d'entretien) employées dans ces zones recevront une formation continue dans les disciplines pertinentes pour la fabrication de vaccins. Cette formation comportera des éléments d'hygiène et de microbiologie. Si du personnel extérieur n'ayant pas bénéficié d'une telle formation est amené à pénétrer dans ces locaux (par exemple du personnel de sociétés d'entretien ou de construction), il conviendra d'assurer son information et sa supervision.
- iii) Le personnel qui a participé à des opérations de fabrication faisant intervenir des substances provenant de tissus animaux ou de cultures de micro-organismes différents de ceux utilisés pour la fabrication en cours ne pénétrera dans les zones consacrées à la fabrication de produits stériles qu'après avoir suivi des procédures d'entrée précises et rigoureuses.
- iv) Des règles strictes de propreté et d'hygiène personnelle sont essentielles. Il est demandé aux membres du personnel participant à la fabrication de préparations aseptiques de signaler toute affection qui pourrait entraîner la dissémination de contaminants en nombre ou de types anormaux. Des contrôles médicaux périodiques sont souhaitables dans cette optique. Les mesures à prendre à l'endroit des opérateurs qui pourraient présenter un risque microbiologique excessif seront décidées par une personne compétente, désignée à cet effet.
- v) Les montres-bracelets, le maquillage et les bijoux seront exclus des zones d'atmosphère contrôlée.
- vi) Le changement et le lavage des vêtements doivent être effectués selon une procédure écrite destinée à minimiser la contamination des vêtements portés dans les zones d'atmosphère contrôlée ou l'introduction de contaminants dans ces zones.
- vii) Les vêtements et leur qualité doivent être adaptés aux fabrications et aux classes des zones de travail. Ils doivent être portés de façon à protéger le produit des contaminations.
- viii) Les vêtements requis pour chaque classe sont décrits ci-dessous:
 - a) Classe D : les cheveux et, le cas échéant, la barbe sont couverts. Un vêtement protecteur normal et des chaussures ou des couvre-chaussures adaptés sont portés. Des mesures appropriées sont prises en vue d'éviter toute contamination provenant de l'extérieur de la zone d'atmosphère contrôlée.
 - b) Classe C : les cheveux et, le cas échéant, la barbe et la moustache sont couverts. Un vêtement constitué d'une veste et d'un pantalon ou d'une combinaison, serré aux poignets et muni d'un col montant, ainsi que des chaussures ou couvre-chaussures adaptés sont portés. Le tissu ne libère pratiquement pas de fibres ou de particules.
 - c) Classe A/B : une cagoule enferme totalement les cheveux et, le cas échéant, la barbe et la moustache; cette cagoule doit être reprise dans le col de la veste ; un masque couvre le visage pour éviter l'émission de gouttelettes ; des gants de caoutchouc ou de plastique, stérilisés et non poudrés, ainsi que des bottes stérilisées ou désinfectées sont portés. Le bas du pantalon est enserré dans les bottes, de même que les manches dans les gants. Ce vêtement protecteur ne libère pratiquement pas de fibres ou de particules et retient les particules émises par l'opérateur.
- ix) Les vêtements personnels ne doivent pas être introduits dans les vestiaires menant aux locaux de classe B et C. Un vêtement protecteur propre et stérile (stérilisé ou désinfecté efficacement) doit être fourni à chaque opérateur en zones de classe A/B, pour chaque session de travail. Les gants doivent être régulièrement désinfectés pendant les opérations ; les masques et les gants doivent être changés au moins pour chaque session de travail.

- x) Les vêtements des zones d'atmosphère contrôlée doivent être nettoyés et manipulés de façon à ce qu'ils ne se chargent pas de contaminants qui pourraient être libérés ultérieurement. Ces opérations doivent s'effectuer selon des procédures écrites. Il est souhaitable de disposer d'une installation de nettoyage réservée à ces vêtements. Certains traitements inadaptés peuvent endommager les fibres et accroître le risque de libérer des particules.

7. Exigences spécifiques pour les zones d'atmosphère contrôlée

- i) Dans les zones d'atmosphère contrôlée, toutes les surfaces apparentes doivent être lisses, imperméables et sans fissure afin de réduire la libération ou l'accumulation de particules ou de micro-organismes et de permettre l'usage répété de produits de nettoyage et, le cas échéant, de désinfectants.
- ii) Pour diminuer l'accumulation de poussières et pour faciliter le nettoyage, les recoins difficiles à nettoyer doivent être proscrits et les saillies, les étagères, les placards et le matériel réduits au minimum. Les portes doivent être d'un modèle ne présentant pas d'anfractuosités difficiles à nettoyer. Pour cette raison, les portes coulissantes ne sont pas souhaitables.
- iii) Les faux plafonds doivent être scellés pour éviter les contaminations provenant de l'espace supérieur.
- iv) Les canalisations et les gaines doivent être installées de façon à ne pas créer de recoins, d'orifices non scellés et de surfaces difficiles à nettoyer.
- v) Les éviers et les canalisations d'évacuation doivent être exclus des zones de classe A/B utilisées pour des fabrications aseptiques. Dans les autres zones, des systèmes anti-retour doivent être installés entre les machines ou les éviers et les canalisations. Les évacuations au sol des zones d'atmosphère contrôlée de classe inférieure doivent être équipées de siphons ou de gardes d'eau pour éviter tout reflux.
- vi) Les vestiaires doivent être conçus et utilisés comme des sas en vue de fractionner physiquement les différentes phases de l'habillage et de minimiser ainsi la contamination microbienne et particulaire des vêtements protecteurs. Ces locaux doivent être efficacement ventilés avec de l'air filtré. La dernière partie du vestiaire relèvera, « au repos », de la même classe que la zone à laquelle elle mène. L'utilisation de vestiaires distincts pour l'entrée et la sortie de la zone d'atmosphère contrôlée est parfois préférable. De manière générale, les lave-mains ne seront installés que dans la première partie des vestiaires.
- vii) Les deux portes d'un sas ne doivent pas être ouvertes simultanément. Un système d'inter-verrouillage ou une alerte visuelle ou sonore seront utilisés en vue d'empêcher l'ouverture de plus d'une porte à la fois.
- viii) Une alimentation en air filtré doit maintenir en toutes circonstances une pression positive et une circulation d'air par rapport aux zones voisines de classe inférieure et ventiler efficacement la zone. Les écarts de pression entre pièces adjacentes relevant de classes différentes peuvent aller de 10 à 15 pascals (valeurs indicatives). Une attention particulière doit être apportée à la protection de la zone de plus haut risque, c'est-à-dire à l'environnement immédiat auquel sont exposés les produits et les accessoires propres en contact avec les produits. Les différentes recommandations concernant l'alimentation en air et les différences de pression peuvent au besoin être modifiées lorsqu'il devient nécessaire de confiner certains composants, comme des virus ou des bactéries vivants. Des installations de décontamination et de traitement de l'air extrait de la zone peuvent s'avérer nécessaires pour certaines opérations.
- ix) Il conviendra de démontrer que le schéma aéralique ne présente pas de risque de contamination, que, par exemple, des précautions ont été prises pour que la circulation de l'air n'entraîne pas les particules provenant d'une personne, d'une opération ou d'une machine vers une zone de plus haut risque pour le produit.
- x) L'alimentation en air doit être munie d'un système d'alarme détectant toute déficience. Les zones entre lesquelles il est important de maintenir une différence de pression doivent être équipées d'un indicateur de différentiel de pression et ce différentiel de pression doit être régulièrement relevé ou consigné d'une autre manière.

8. Matériel

- i) Les tapis roulants ne peuvent franchir les parois entre une zone de classe A ou B et une zone de classe inférieure, sauf dans le cas où le tapis roulant lui-même est continuellement stérilisé (ex. tunnel de stérilisation).

- ii) Dans la mesure du possible, le matériel, les appareils et les installations techniques doivent être conçus et installés afin de permettre que les interventions, l'entretien et les réparations puissent être effectués de l'extérieur de la zone d'atmosphère contrôlée. Si une stérilisation est requise, celle-ci sera effectuée, dans la mesure du possible, après la remise en état.
- iii) Lorsque l'entretien du matériel a été effectué au sein de la zone d'atmosphère contrôlée et s'il apparaît que les conditions de propreté et d'asepsie requises n'ont pas pu être maintenues pendant les opérations d'entretien, cette zone doit être nettoyée, désinfectée et éventuellement stérilisée avant toute nouvelle fabrication.
- iv) Les installations de traitement et de distribution de l'eau doivent être conçues, construites et entretenues en vue d'assurer un approvisionnement fiable en eau de qualité appropriée. Elles ne seront pas utilisées au-delà de la capacité pour laquelle elles ont été conçues.
- v) Les différents équipements, tels que les stérilisateurs, les systèmes de conditionnement et de filtration de l'air, les filtres évents et les filtres à gaz, les systèmes de traitement, de production, de stockage et de distribution de l'eau, doivent être validés et entretenus de façon planifiée. Leur remise en service doit être approuvée.

9. Désinfection

- i) La désinfection des zones d'atmosphère contrôlée est particulièrement importante. Celles-ci doivent être minutieusement nettoyées, conformément à un programme écrit. Lorsque des désinfectants sont utilisés, il convient d'en employer plusieurs et de différents types. Une surveillance microbiologique régulière est nécessaire en vue de détecter tout développement de souches résistantes.
- ii) Les désinfectants et les détergents doivent être contrôlés sur le plan de la contamination microbienne ; leurs dilutions seront conservées dans des récipients nettoyés au préalable, stockés et étiquetés selon leurs spécifications et leur péremption. Les désinfectants et détergents utilisés dans des zones de classe A et B doivent être stériles.

10. Fabrication

- i) La préparation ou la répartition de médicaments d'origine microbienne ne doit pas se faire dans les zones utilisées pour la fabrication d'autres vaccins; la répartition de vaccins à base de micro-organismes tués ou d'extraits bactériens peut se faire, une fois inactivés, dans les mêmes locaux que ceux utilisés pour la répartition d'autres médicaments stériles, après un nettoyage approprié.
- ii) La validation des procédés de fabrication aseptique doit comprendre la simulation du procédé à l'aide d'un milieu de culture (test de répartition aseptique). Le choix du milieu de culture dépendra d'une part de la forme pharmaceutique du produit et d'autre part de la sélectivité, de la limpidité, de la concentration et de l'aptitude à la stérilisation du milieu nutritif.
- iii) Le test de simulation du procédé de fabrication doit se rapprocher le plus possible des procédés de fabrication aseptique habituels et en comprend les étapes critiques. Il prendra également en compte les diverses interventions susceptibles d'avoir lieu pendant les productions normales ainsi que les situations considérées comme les cas les plus défavorables.
- iv) Les tests de simulation du procédé doivent être réalisés pour la validation initiale avec trois essais de simulation consécutifs conformes par équipe et doivent être répétés à intervalles réguliers ainsi qu'après toute modification significative du système d'alimentation en air filtré, des équipements, du procédé ou du nombre de rotations des équipes. Les tests de simulation doivent normalement être répétés deux fois par an, pour chaque équipe et chaque procédé.
- v) Le nombre de contenants utilisés pour la réalisation des tests de répartition aseptique permet d'évaluer correctement le procédé. Pour les lots de petite taille, le nombre de contenants remplis doit être au moins égal à la taille d'un lot de production. L'objectif est de zéro croissance¹. Quelle que soit la taille du lot, des

1 Le raisonnement à ce sujet figure dans les directives PIC/S (PIC/S, 2014).

contaminations microbiennes sporadiques peuvent indiquer un faible niveau de contamination qui doit faire l'objet d'une enquête. L'enquête sur des non conformités flagrantes doit comprendre l'évaluation de leur impact potentiel sur les garanties de stérilité des lots fabriqués depuis le dernier test de répartition aseptique conforme.

- vi) Il conviendra de veiller à ce que les validations n'entraînent aucun risque pour les fabrications.
- vii) Les installations de traitement d'eau, ainsi que l'eau en amont et en aval de celles-ci doivent être régulièrement contrôlées. Ce contrôle porte sur la contamination chimique et biologique et, si nécessaire, les endotoxines. Les résultats des contrôles et toutes les mesures prises doivent être consignés et conservés.
- viii) Les activités doivent être limitées au minimum dans les zones d'atmosphère contrôlée, particulièrement lors de fabrications aseptiques. Les mouvements des opérateurs doivent être mesurés et méthodiques pour éviter l'émission de particules et d'organismes lors d'activités trop intenses. La température ambiante et l'humidité ne doivent pas être trop élevées en raison du type de vêtements portés dans ces zones.
- ix) La contamination microbienne des matières premières doit se situer dans la plage préalablement spécifiée. Les spécifications doivent comporter des normes de propreté microbiologique lorsque les contrôles en ont démontré la nécessité.
- x) Les récipients et les produits susceptibles de libérer des fibres doivent être limités au strict minimum dans les zones d'atmosphère contrôlée.
- xi) Après le dernier processus de nettoyage, les accessoires, les récipients et le matériel doivent être manipulés de façon à ne pas être recontaminés.
- xii) L'intervalle de temps entre le lavage, le séchage et la stérilisation des accessoires, des récipients et du matériel, ainsi qu'entre la stérilisation et l'utilisation, doit être le plus court possible. Une durée limite sera fixée en fonction des conditions de stockage.
- xiii) Les accessoires, les récipients, le matériel et tout autre article nécessaire en zone d'atmosphère contrôlée lors de fabrications aseptiques doivent être stérilisés et introduits dans la zone par des stérilisateur à double porte, scellés dans le mur ou selon une procédure poursuivant les mêmes objectifs, à savoir d'éviter toute contamination. Les gaz non combustibles doivent passer au travers d'un filtre antimicrobien.
- xiv) L'efficacité de toute nouvelle procédure doit être validée et la validation vérifiée à intervalles déterminés sur la base de résultats antérieurs ou lors de toute modification significative du procédé ou du matériel.

11. Stérilisation

- i) Toutes les procédures de stérilisation doivent être validées. Une attention particulière doit être portée aux méthodes de stérilisation non décrites dans l'édition en vigueur de la Pharmacopée Européenne ou lorsque la méthode est appliquée à un produit autre qu'une simple solution aqueuse ou huileuse. Lorsqu'elle est envisageable, la stérilisation par la chaleur est la méthode de choix. Dans tous les cas, le procédé de stérilisation doit être conforme aux autorisations de fabrication et de mise sur le marché.
- ii) Avant d'adopter une méthode de stérilisation, il faut démontrer au moyen de mesures physiques et, le cas échéant, d'indicateurs biologiques qu'elle convient au produit et qu'elle est capable de réaliser les conditions nécessaires à la stérilisation pour tous les types de charge à traiter. La validité de la procédure doit être contrôlée à intervalles déterminés, au moins annuellement, et après chaque modification importante apportée au matériel. Les résultats doivent être consignés.
- iii) Pour qu'une stérilisation soit efficace, la totalité des produits doit être soumise au traitement requis. La conception du procédé doit garantir une bonne exposition au traitement.
- iv) Des schémas de chargements validés doivent être établis pour chaque procédure de stérilisation.
- v) Les indicateurs biologiques peuvent être considérés comme un moyen supplémentaire de contrôler la stérilisation. Ils doivent être stockés et utilisés conformément aux instructions du fabricant. Leur qualité sera vérifiée à l'aide de témoins positifs. Si des indicateurs biologiques sont utilisés, il conviendra de prendre toutes les précautions en vue d'éviter qu'ils soient à l'origine de contaminations microbiennes.

- vi) La distinction entre les produits déjà stérilisés et ceux qui doivent l'être sera claire. Chaque panier, chariot ou autre dispositif de transport de produits ou d'accessoires sera étiqueté de façon claire et portera le nom du produit, son numéro de lot et l'indication de sa stérilisation ou non. Des indicateurs comme les bandes pour autoclave peuvent être utilisés le cas échéant, pour indiquer si un lot (ou un sous-lot) a été ou non soumis à un processus de stérilisation, mais ils ne garantissent pas la stérilité du lot.
- vii) Les enregistrements de chaque cycle de stérilisation peuvent être consultés. Ils doivent être approuvés dans le cadre de la procédure de libération des lots.

11.1. Stérilisation par la chaleur

- i) Chaque cycle de stérilisation par la chaleur doit être enregistré sur un diagramme indiquant le temps et la température sur une échelle suffisamment grande ou par tout autre dispositif suffisamment juste et précis. La position des sondes permettant l'enregistrement ou le contrôle de la température doit être déterminée au cours de la validation. La température sera, s'il y a lieu, contrôlée grâce à une seconde sonde de température indépendante située au même endroit.
- ii) Des indicateurs chimiques ou biologiques peuvent aussi être utilisés mais ne remplacent pas les contrôles physiques.
- iii) Il faut prévoir un temps de chauffage suffisant pour que la totalité de la charge atteigne la température requise avant de commencer à mesurer le temps de stérilisation. Ce temps sera déterminé pour chaque type de charge à stériliser.
- iv) Après le plateau de stérilisation d'un cycle, des précautions seront prises pour éviter la contamination de la charge stérilisée au cours du refroidissement. Tout fluide ou gaz de refroidissement en contact avec le produit doit être stérile, sauf s'il peut être démontré que tout flacon non étanche sera refusé.

11.1.1. Chaleur humide

- i) La température et la pression peuvent toutes deux être utilisées pour contrôler le procédé. Le système de pilotage doit normalement être indépendant du système de surveillance et des enregistrements. Les systèmes de pilotage et de contrôle automatiques doivent être validés pour garantir le respect des exigences liées aux étapes critiques du procédé. Les défaillances du système ou du cycle de stérilisation doivent être enregistrées et contrôlées par l'opérateur. Les résultats des enregistreurs de température indépendants de l'autoclave doivent être comparés de manière systématique à ceux enregistrés durant le cycle de stérilisation. Pour des stérilisateur munis d'une évacuation dans le bas de la chambre, il peut aussi s'avérer nécessaire d'enregistrer la température à cet endroit, tout au long du cycle de stérilisation. La chambre doit régulièrement subir des tests d'étanchéité lorsque le cycle comprend une phase de dépression.
- ii) Les produits à stériliser, à l'exception des récipients scellés, doivent être emballés dans un matériau qui permet la sortie de l'air et la pénétration de la vapeur, mais qui protège de la recontamination après stérilisation. Toute la charge doit être en contact avec l'agent stérilisant à la température et pour la durée requise.
- iii) La vapeur utilisée pour la stérilisation doit être de qualité convenable et ne pas contenir d'additifs en quantité telle qu'ils puissent contaminer le produit ou le matériel.

11.1.2. Chaleur sèche

- i) Le procédé doit comporter une circulation d'air dans la chambre et maintenir une surpression pour empêcher l'entrée d'air non stérile. Tout l'air entrant doit passer sur un filtre à haute efficacité (HEPA). Lorsque la méthode est aussi utilisée pour la destruction des pyrogènes, la validation peut comporter des tests de stimulation avec des endotoxines.

11.2. Stérilisation par irradiation

- i) La stérilisation par irradiation s'utilise principalement pour la stérilisation d'accessoires et de produits sensibles à la chaleur. Compte tenu du fait que de nombreux médicaments et certains articles de conditionnement sont sensibles aux radiations, cette méthode n'est admise que si l'absence de détérioration a été démontrée expérimentalement. Le rayonnement ultraviolet ne constitue normalement pas une méthode acceptable de stérilisation.
- ii) La dose d'irradiation doit être mesurée pendant le processus de stérilisation. Dans ce but, des dosimètres mesurant la dose réellement reçue par le produit lui-même, indépendamment de la dose d'irradiation, doivent être utilisés. Les dosimètres seront introduits dans la charge en nombre suffisant et suffisamment proches les uns des autres pour qu'il y ait toujours un dosimètre dans l'irradiateur. Lorsque l'on utilise des dosimètres en plastique, ils doivent être employés dans les durées limites de validité de leur calibration. Les absorbances des dosimètres doivent être lues peu de temps après leur exposition aux radiations.
- iii) Des indicateurs biologiques peuvent être utilisés comme moyen de contrôle supplémentaire.
- iv) Les procédures de validation doivent démontrer que les variations de densité des conditionnements ont été prises en considération.
- v) Des procédures pour la manipulation des substances doivent permettre d'éviter les risques de confusion entre produits irradiés et non irradiés. Chaque conditionnement doit porter un indicateur radiosensible montrant s'il a été ou non soumis à l'irradiation.
- vi) La dose totale d'irradiation doit être administrée dans un laps de temps préalablement fixé.

12. Finition

- i) Les récipients lyophilisés partiellement bouchés doivent être maintenus sous classe A jusqu'à ce que le bouchon soit entièrement inséré.
- ii) Les récipients doivent être fermés selon des méthodes convenablement validées. Les récipients fermés par fusion, par exemple les ampoules de verre et de plastique, doivent être soumis à des tests démontrant leur intégrité à 100%. Les échantillons des autres types de récipients seront soumis à des tests d'intégrité selon des procédures appropriées.
- iii) Pour les récipients remplis de manière aseptique, le système de fermeture ne sera pas complet tant que la capsule d'aluminium n'aura pas été sertie sur le bouchon. Le sertissage de la capsule interviendra le plus rapidement possible après l'insertion du bouchon.
- iv) Comme l'équipement utilisé pour le sertissage des capsules peut générer d'importantes quantités de particules non-viables, il doit être situé dans un emplacement séparé et équipé d'un système d'extraction d'air adéquat.
- v) Le sertissage des capsules peut être considéré comme partie intégrante du procédé aseptique utilisant des capsules stérilisées ou comme une opération réalisée en dehors de la zone stérile. Dans ce dernier cas, les flacons doivent être protégés par un flux d'air de classe A de la sortie de la zone stérile jusqu'au sertissage de la capsule.
- vi) Les flacons dont le bouchon est manquant ou mal placé doivent être rejetés avant le sertissage de la capsule. Quand l'intervention d'un opérateur est nécessaire au niveau du sertissage, des mesures appropriées doivent être utilisées pour éviter le contact direct avec les flacons et pour minimiser les risques de contamination microbienne.
- vii) Des dispositifs limitant l'accès ou des isolateurs peuvent permettre d'assurer les conditions requises et de limiter les interventions humaines directes pendant les opérations de sertissage.
- viii) Pour les récipients scellés sous vide, le maintien du vide doit être vérifié après un délai approprié et préalablement fixé.

- ix) Après le remplissage, les produits à usage parentéral doivent subir un contrôle individuel destiné à détecter toute contamination adventice ou autre défaut. Lorsque ce contrôle est effectué visuellement, il doit se faire dans des conditions appropriées et contrôlées de lumière et d'arrière-plan. Les opérateurs effectuant ce contrôle subiront des examens oculaires réguliers, avec leurs verres correcteurs s'ils en portent, et auront droit à des pauses fréquentes. Lorsque l'on utilise d'autres méthodes de contrôle, le procédé doit être validé et le bon fonctionnement de l'appareillage contrôlé régulièrement. Les résultats des contrôles doivent être enregistrés.

RÉFÉRENCES

INTERNATIONAL ORGANISATION FOR STANDARDIZATION (ISO) (1999). ISO 14644-1:1999. Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1: Classification of air cleanliness. International Organization for Standardization (ISO), www.iso.org.

INTERNATIONAL ORGANISATION FOR STANDARDIZATION (ISO) (2000). ISO 14644-2:2000. Cleanrooms and associated controlled environments – Part 2: Specifications for testing and monitoring to prove continued compliance with ISO 14644-1. International Organization for Standardization (ISO), www.iso.org.

PHARMACEUTICAL INSPECTION CO-OPERATION SCHEME (PIC/S) (2014). Guide to good manufacturing practice for medicinal products. Pharmaceutical Inspection Convention, PIC/S, Geneva, Switzerland.
<http://www.picscheme.org/publication.php?id=4>

*

* *

NB: VERSION ADOPTÉE PAR L'ASSEMBLÉE MONDIALE DES DÉLÉGUÉS DE L'OMSA EN MAI 2016